

# C/EBP $\alpha$ 在肝病中的研究进展\*

赵静静, 姜晓丽, 陈洪卫 综述, 侯彦强 $\Delta$  审校

(上海交通大学附属第一人民医院松江分院检验科, 上海 201600)

关键词: C/EBP $\alpha$ ; 肝炎; 肝纤维化; 肝癌

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.23.031

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)23-3320-03

C/EBP 蛋白因其与启动子 CCAAT 区及多种病毒增强子相结合而命名, 目前为止已发现 6 种 C/EBP 家族成员, 分别命名为 C/EBP $\alpha$ , C/EBP $\beta$ , C/EBP $\gamma$ , C/EBP $\delta$ , C/EBP $\epsilon$  和 C/EBP $\zeta$ 。C/EBPs 调控基因转录起始、转录后修饰及蛋白间的相互作用, 在细胞增殖和分化、代谢和凋亡、炎症和转化、致癌基因引起的细胞老化及肿瘤发生等方面发挥重要作用<sup>[1-2]</sup>。C/EBP $\alpha$  是 C/EBPs 家族中最早被发现克隆和研究的基因, 在肝脏组织中丰富表达。近年来研究表明, C/EBP $\alpha$  参与肝细胞的增殖和分化, 参与慢性肝炎、肝纤维化、肝癌发生等病理过程<sup>[3-4]</sup>。本文介绍了 C/EBP $\alpha$  的基本结构和生物学功能及其在肝病中的研究进展。

## 1 C/EBP $\alpha$ 的基本结构

C/EBP $\alpha$  位于染色体 19q13.1, 无内含子, 全长 3 318 bp, 编码 358 个氨基酸, 其 mRNA 以“核糖跳跃机制”编码两种蛋白产物<sup>[5]</sup>。C/EBP $\alpha$  有 3 个基本结构域: C 端亮氨酸拉链结构域、基本 DNA 结合区域和 N 端转录激活区域<sup>[6]</sup>。N 端转录激活区域直接或间接启动转录; 位于 C 端的基本 DNA 结合区域识别 DNA 分子上特异的回文序列 RTTGCGYAAAY (R = A 或 G, Y = C 或 T), 并提供核定位信号, 形成 DNA 结合域/核定位信号结构<sup>[7]</sup>; C 端亮氨酸拉链结构域与 DNA 结合域共同构成 bZIP 模块, 该模块在 C/EBP 蛋白家族和 bZIP 家族中高度保守, C/EBP 家族通过 ZIP 结构与自身或 C/EBP 家族其他成员 (除了 C/EBP $\zeta$ ) 构成同源二聚体或异源二聚体, 二聚体的形成是其结合 DNA 的先决条件<sup>[8]</sup>。

## 2 C/EBP $\alpha$ 的生物学功能

C/EBP $\alpha$  在胎盘、肝、肺骨骼肌、小肠、结肠和外周血白细胞等多种组织、器官中均有表达, 尤其在成熟的终末分化细胞如肝脏细胞、脂肪细胞等组织中高表达<sup>[9]</sup>。C/EBP $\alpha$  在细胞的增殖、分化、炎症反应、肿瘤发生及机体的免疫、应激反应、能量代谢、血液生成等方面发挥重要的作用, 在肿瘤研究中发现 C/EBP $\alpha$  抑制细胞增殖, C/EBP $\alpha$  与多个细胞周期相关蛋白相互作用, 通过多条途径阻滞细胞增殖<sup>[10]</sup>。Timchenko 等<sup>[11]</sup> 研究证实, C/EBP $\alpha$  与 p21 蛋白相互作用介导抑制细胞增殖并促进分化。C/EBP $\alpha$  调控细胞增殖分化的机制尚不明确, 目前认为, C/EBP $\alpha$  不仅能够调节、稳定、活化细胞周期蛋白抑制物 p21 或直接抑制 CDK2 和 CDK4 活性, 还能抑制 E2F 介导的转录过程等, 阻断细胞周期进程, 抑制 c-myc 基因的表达而上调 P53 基因的表达, 抑制细胞增殖<sup>[12-13]</sup>。

## 3 C/EBP $\alpha$ 在正常肝脏中的作用

C/EBP $\alpha$  在肝细胞中的富集表达对肝脏生物学功能的维

持有重要作用, C/EBP $\alpha$  结合肝脏的功能基因的顺式作用元件, 其靶基因参与能量代谢、氨及胆红素解毒、凝血、肝再生、细胞色素 P450 基因表达、信号转导等多种功能, 维持肝脏的正常代谢功能。研究发现, 肝脏组织特异性 C/EBP $\alpha$  基因敲除小鼠缺乏糖原合成酶致使肝脏内无糖原储备, 肝糖异生调节酶和胆红素减毒等的相关基因转录水平下降, 从而导致肝脏代谢紊乱<sup>[14]</sup>。

## 4 C/EBP $\alpha$ 在肝炎中的作用

C/EBP $\alpha$  不仅可以结合到 CCAAT 启动子结构域, 也能与许多病毒所共有的核心序列 GTG-G(T/A)(T/A)(T/A)G 结合。Lópezcabrera 等<sup>[15]</sup> 等研究发现, 在 C/EBP $\alpha$  低浓度时可以结合乙型肝炎逆转录病毒核心启动子/增强子, 激活乙型肝炎病毒基因的转录, 而高浓度的 C/EBP $\alpha$  可以抑制乙型肝炎病毒基因的转录。Chen 等<sup>[16]</sup> 研究发现, p21 作为一种多功能蛋白, 不能直接与 DNA 结合, 可以与 C/EBP $\alpha$  结构域结合, 以 p21/C/EBP $\alpha$  复合物的形式激活 HBV 核心启动子, 并可以促进 C/EBP $\alpha$  的高表达。另有研究发现, 乙型肝炎病毒 X 蛋白 (HBX) 可以促进 p21 的表达, 而 HBX 又可以与 C/EBP $\alpha$  的亮氨酸拉链结构域结合, 激活 HBV 前基因组启动子的转录<sup>[17]</sup>。Lin 等<sup>[18]</sup> 研究发现, IL-4 可以下调 C/EBP $\alpha$  的水平, 抑制其与核心上游调节序列/增强子位点的结合, 从而抑制 HBV DNA 的表达和复制, C/EBP $\alpha$  对 HBV 如何调控还有待于进一步研究。

## 5 C/EBP $\alpha$ 与肝纤维化的关系

研究发现肝星状细胞 (HSC) 的激活在肝纤维化过程中起关键作用, HSC 激活的显著变化是细胞内脂滴的减少甚至消失<sup>[19]</sup>。C/EBP $\alpha$  基因表达是维持脂肪细胞分化的重要调控因子之一, 其主要功能是促进脂肪细胞进入终末分化, 且 C/EBP $\alpha$  可激活 HSC 并诱导其凋亡从而抑制肝纤维化的过程。体外研究发现, C/EBP $\alpha$  的表达可以降低肝纤维化, 可能的机制是自噬参与了 C/EBP $\alpha$  的表达, 但这一机制仍需进一步验证<sup>[20]</sup>。体内研究发现, C/EBP $\alpha$  在小鼠体内可促使 HSC 发生凋亡, 同时对肝细胞无明显影响, 过表达的 C/EBP $\alpha$  可以通过 PPAR $\gamma$  上调 p53 基因的表达, 而上调 Fas、肿瘤坏死相关因子凋亡诱导配体及 DR5 的表达, 从而诱导 HSC 的凋亡, 抑制肝纤维化<sup>[21]</sup>。提示 C/EBP $\alpha$  过表达对 HSC 的增值起抑制作用。因此认为, C/EBP $\alpha$  在肝纤维化病理过程中有重要作用。

## 6 C/EBP $\alpha$ 在肝癌中的作用

目前, 已有很多证据表明 C/EBP $\alpha$  参与肿瘤的发生、发展<sup>[22]</sup>。大量研究表明 C/EBP $\alpha$  是肿瘤抑制因子, C/EBP $\alpha$  基因和蛋白在正常组织及癌旁组织基因的表达水平明显高于在肝

\* 基金项目: 上海市卫生和计划生育委员会项目 (201540119); 上海市松江区科学技术攻关项目 (15sjgg47)。

$\Delta$  通讯作者, E-mail: houyanqiang@aliyun.com。

癌组织中的水平。C/EBP $\alpha$  基因敲除的肝细胞株增殖时间缩短、异型性及成瘤性增强,提示 C/EBP $\alpha$  促进肝细胞分化及肿瘤形成<sup>[23]</sup>。有研究显示,在乳腺癌 MCF7 细胞中 C/EBP $\alpha$  的过度表达促进了 miR-134 的表达,进而抑制了抗凋亡基因 CREB 和 Bcl-2 的表达<sup>[24]</sup>。而大量学者认为 C/EBP $\alpha$  作用的目标靶点 miR-134 在肝癌细胞中是下调的,并且 miR-134 可以抑制肝癌细胞的侵袭和转移<sup>[25]</sup>。肝细胞癌中表达降低的 C/EBP $\alpha$  与肿瘤分期明显相关,C/EBP $\alpha$  明显降低的患者生存期更短,可以作为判断预后的重要标志<sup>[26]</sup>。在肝肿瘤细胞中激活 P13K/AKT 信号通路,通过 PP2A 介导 C/EBP $\alpha$  的 ser193 位点脱磷酸化,阻断 C/EBP $\alpha$  介导的抑制有丝分裂,抑制细胞增殖效应,揭示肝肿瘤细胞可能通过 P13K/AKT 通路逃离 C/EBP $\alpha$  介导的肿瘤细胞增殖抑制作用<sup>[27]</sup>。但是也有与以上不同的研究发现和结论, Lu 等<sup>[28]</sup> 研究发现 C/EBP $\alpha$  在肝癌组织中的表达水平至少是相邻正常组织的 2 倍,且在 Hep3B 和 Huh7 细胞株敲除 C/EBP $\alpha$  显著抑制细胞增殖与克隆形成,C/EBP $\alpha$  明显升高的患者生存期更短。分析原因可能为:(1)肝癌周围组织同时也受肝炎和肝硬化的影响;(2)Wang 等<sup>[29]</sup> 通过研究发现转录后修饰调节可能促使 C/EBP $\alpha$  从抑制肿瘤生长转变为促进肿瘤生长。(3)肝癌时,过表达的 C/EBP $\alpha$  对于能量代谢的缺乏比正常肝细胞处于优势状态,体外研究发 TMEM166 参与了 C/EBP $\alpha$  自噬介导的脂质代谢和耐饥饿保护,供应癌细胞的能量需求<sup>[30]</sup>。因此,C/EBP $\alpha$  对肝癌细胞的调控作用还有待于进一步研究。

综上所述,转录因子 C/EBP $\alpha$  参与肝脏的增值、分化、能量代谢,并在肝脏的多种病理过程如慢性肝炎、肝纤维化及肝癌等中发挥着重要作用,但 C/EBP $\alpha$  在肝病中的确切功能及调控机制仍需进一步深入研究。

## 参考文献

- [1] Lu H, Yu Z, Liu S, et al. CUGBP1 promotes cell proliferation and suppresses apoptosis via down-regulating C/EBP $\alpha$  in human non-small cell lung cancers[J]. *Med Oncol*, 2015, 32(84): 1-10.
- [2] Bloomer SA, Kregel KC, Brown KE. Heat stress stimulates hepcidin mRNA expression and C/EBP $\alpha$  protein expression in aged rodent liver[J]. *Arch Gerontol Geriatr*, 2014, 58(1): 145-152.
- [3] Masao Honda, Taro Yamashita, Tatsuya Yamashita, et al. Peretinoin, an acyclic retinoid, improves the hepatic gene signature of chronic hepatitis C following curative therapy of hepatocellular carcinoma[J]. *BMC Cancer*, 2013, 13(1): 191-204.
- [4] Tang XM, Yang JT, Li J. Accelerative effect of leflunomide on recovery from hepatic fibrosis involves TRAIL-mediated hepatic stellate cell apoptosis[J]. *Life Sci*, 2009, 84(15): 552-557.
- [5] Zahnow CA. CCAAT/enhancer-binding protein  $\beta$ : its role in breast cancer and associations with receptor tyrosine kinases[J]. *Expert Rev Mol Med*, 2011, 11(12): 1017-1051.
- [6] 郑锐丹, 廖丽红, 王成斌. 胰岛素受体底物 I 基因沉默对 3T3-L1 细胞 CCAAT 增强子结合蛋白  $\alpha$ 、过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  表达的影响[J]. *实用儿科临床杂志*, 2012, 17(7): 482-485.
- [7] Shafi ei MS, Shetty S, Scherer PE, et al. Adiponectin regulation of stellate cell activation via PPAR $\gamma$ -dependent and -independent mechanisms[J]. *J Pathol*, 2011, 178(6): 2690-2699.
- [8] Tsukada J, Yoshida Y, Kominato Y, et al. The CCAAT/enhancer(C/EBP) family of basic-leucine zipper (bZIP) transcription factors is a multifaceted highly-regulated system for gene regulation[J]. *Cytokine*, 2011, 54(1): 6-19.
- [9] Suzuki H, Toyoda M, Horiguchi N, et al. Hepatocyte growth factor protects against Fas-mediated liver apoptosis in transgenic mice[J]. *Liver International*, 2009, 29(10): 1562-1568.
- [10] Yang G, Hinson MD, Bordner JE, et al. Silencing hypoxia-induced C/EBP $\alpha$  in neonatal mice improves lung architecture via enhanced proliferation of alveolar epithelial cells[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2011, 301(2): 187-196.
- [11] Timchenko NA, Harris TE, Wilde M, et al. CCAAT/enhancer binding protein  $\alpha$  regulates p21 protein and hepatocyte proliferation in newborn mice[J]. *Mol Cell Biol*, 1997, 17(12): 7353-7361.
- [12] Shi YC, Zhao H, Yin C, et al. C/EBP $\alpha$  inhibits hepatocellular carcinoma by reducing Notch3/Hes1/p27 cascades[J]. *Dig Liver Dis*, 2013, 45(10): 844-851.
- [13] Wang x, Huang G, Mei S, et al. Over-expression of C/EBP $\alpha$  induces apoptin in cultured rat hepatic stellate cells depending on p53 and permissome proliferator-activated receptor- $\gamma$  [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 380(2): 286-291.
- [14] Wang ND, Finegold MJ, Bradley A, et al. Impaired energy homeostasis in C/EBP  $\alpha$  knockout mice[J]. *Science*, 1995, 269(5227): 1108-1112.
- [15] Lópezcabrera M, Letovsky J, Hu KQ, et al. Multiple liver-specific factors bind to the hepatitis B virus core/promoter; trans-activation and repression by CCAAT/enhancer binding protein[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1990, 87(13): 5069-5073.
- [16] Chen YF, Chong CL, Wu YC, et al. Doxorubicin Activates Hepatitis B Virus Replication by Elevation of p21(Waf1/Cip1) and C/EBP Expression[J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): 1371-1388.
- [17] Park US, Park SK, Lee YI, et al. Hepatitis B virus-X protein upregulates the expression of p21waf1/cip1 and prolongs G1-S transition via a p53-independent pathway in human hepatoma cells[J]. *Oncogene*, 2000, 19(30): 3384-3394.
- [18] Lin SJ, Shu PY, Chang C, et al. IL-4 suppresses the expression and the replication of hepatitis B virus in the hepatocellular carcinoma cell line Hep3B[J]. *J Immunol*, 2003, 171(9): 4708-4716.
- [19] Kasakura K, Takahashi K, Itoh T, et al. C/EBP- $\alpha$  controls mast cell function[J]. *Febs Letters*, 2014, 588(24): 4645-

- 4653.
- [20] Tao LL, Zhai YZ, Ding D, et al. The role of C/EBP- $\alpha$  expression in human liver and liver fibrosis and its relationship with autophagy[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(10):13102-13107.
- [21] Wang X, Huang G, Shuang M, et al. Over-expression of C/EBP-alpha induces apoptosis in cultured rat hepatic stellate cells depending on p53 and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 380(2):286-291.
- [22] 米兰, 孙晶, 高耀辉, 等. C/EBP $\alpha$  在结肠直肠癌的表达及对癌细胞的作用[J]. 外科理论与实践, 2015, 20(1):30-35.
- [23] Wang GL, Shi X, Haefliger S, et al. Elimination of C/EBP-alpha through the ubiquitin-proteasome system promotes the development of liver cancer in mice[J]. J Clin Invest, 2010, 120(7):2549-2562.
- [24] Zhang J, Ma Y, Wang S, et al. C/EBP inhibits proliferation of breast cancer cells via a novel pathway of miR-134/CREB[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(11):14472-14478.
- [25] Faraji F, Hu Y, Wu G, et al. An integrated systems genetics screen reveals the transcriptional structure of inherited predisposition to metastatic disease[J]. Genome Res, 2014, 24(2):227-240.
- [26] Tseng HH, Hwang YH, Yeh KT, et al. Reduced expression of C/EBP alpha protein in hepatocellular carcinoma is associated with advanced tumor stage and shortened patient survival[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2009, 135(2):241-247.
- [27] Atta J, Majumder S, Kutay H, et al. Metallothionein expression is suppressed in primary human hepatocellular carcinomas and is mediated through inactivation of CCAAT/enhancer binding protein alpha by phosphatidylinositol 3-kinase signaling cascade[J]. Cancer Res, 2007, 67(6):2736-2746.
- [28] Lu GD, Leung CH, Yan B, et al. C/EBP is up-regulated in a subset of hepatocellular carcinomas and plays a role in cell growth and proliferation[J]. Gastroenterology, 2010, 139(2):632-643.
- [29] Wang GL, Iakova P, Wilde M, et al. Liver tumors escape negative control of proliferation via PI3K/Akt-mediated block of C/EBPalpha growth inhibitory activity[J]. Genes Dev, 2004, 18(8):912-925.
- [30] Lu GD, Ang YH, Zhou J, et al. CCAAT/Enhancer Binding Protein a Predicts Poorer Prognosis and Prevents Energy Starvation-Induced Cell Death in Hepatocellular Carcinoma[J]. Hepatology, 2015, 61(3):965-978.

(收稿日期:2016-05-30 修回日期:2016-08-20)

• 综 述 •

## 基因分型技术在院内感染铜绿假单胞菌中的应用研究进展\*

张 伟, 徐益恒 综述, 邵文琳<sup>△</sup> 校审

(昆明医科大学第二附属医院检验科, 昆明 650101)

关键词: 铜绿假单胞菌; 基因分型; 院内感染

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.23.032

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)23-3322-04

铜绿假单胞菌是世界范围内医院获得性感染的重要病原菌。对引起疾病的病原菌基因分型的传染源确定、阻止病原菌的传播、潜在病原菌危险的控制和医院耐药监测有很重要的作用。细菌分型作为分子流行病学研究调查的主要研究内容,其结果的准确性依赖于分型方法是否稳定可靠、准确<sup>[1]</sup>。细菌分型的方法包括依靠生理、生化特征的表型分型法和近年来流行使用的基因分型法。表型分型方法是根据细菌的生理、生化等表型特征进行分类包括噬菌体分型法、血清型法、营养分型法和药物敏感试验等,这些分型的方法由于受到细菌本身复杂因素及方法的敏感性因素影响,往往就无法有效对不同的菌株进行区分,因此其应用受到很大限制。运用分子生物学方法检测细菌基因型来鉴别菌株的基因分型法,是1980年起逐渐被引入微生物鉴定领域,成为目前较主流的流行病学研究工具,在基因组水平对细菌进行鉴定与分类,与表型分型相比更加细化,对院内引起感染的铜绿假单胞菌近亲缘性,即克隆性菌株

鉴定有重要意义,从根本上确定菌株遗传基础的相互联系和变异,为流行病学调查工作中确定菌株间的遗传亲缘关系等方面提供更为有力的实验室证据<sup>[2]</sup>。基因分型法目前运用较多的有:重复序列聚合酶链反应(PCR)、随机扩增多态性DNA(RAPD)、多位点可变数目串联重复序列分析(VNTR)、限制性片段长度多态性PCR(RFLP)、多位点序列分型(MLST)、脉冲场凝胶电泳(PFGE)。分型方法是在微生物学、遗传学、流行病学等交叉学科一系列研究中的工具,选择合适的方法,有效监测院内病原菌的分子流行病学变化,如此研究预期和最终目的才能达到。现就目前常用于铜绿假单胞菌基因分型的技术进行简要介绍。

### 1 重复序列 PCR

重复序列 PCR 是采用特定引物对细菌基因组重复序列的 DNA 进行扩增,高度保守的重复序列之间的不同区域可表现不同的图谱,然后经凝胶电泳分析其多态性。目前,运用最多

\* 基金项目:云南省卫生科技计划项目(2014NS114);昆明医科大学研究生创新基金项目(2015S31)。

<sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: taiwenlinlin@sohu.com。